

*Важинская Е. Б.*

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ В ИССЛЕДОВАНИИ МОРФОЛОГИИ ПОВЕРХНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ**

*Научный руководитель канд. физ-мат. наук, доц. Кухаренко Л. В.*

*Кафедра медицинской и биологической физики*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

**Актуальность.** Известно, что ключевая роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний принадлежит тромбоцитам. Несмотря на успехи в изучении механизмов активации тромбоцитов, многие вопросы, касающиеся структурной модификации поверхности активированных тромбоцитов, остаются не известными. Поэтому использование и разработка новых экспериментальных подходов к исследованию морфофункционального состояния тромбоцитов при их активации, адгезии, а так же агрегации не утрачивает своей актуальности. В последние годы для исследования кровяных пластинок используется одна из новейших методик - атомно-силовая микроскопия (АСМ). Неразрушающий характер исследований, нанометровое пространственное разрешение, а также возможность проведения исследований в жидких средах делают применение атомно-силовой микроскопии особенно перспективным для исследования морфологии поверхности как активированных, так и интактных тромбоцитов. Для проведения АСМ исследований необходимо использовать методики приготовления клеток, позволяющие получить объективную информацию о морфологии поверхности цитоплазматической мембраны.

**Цель:** цель данной работы состояла в разработке методики приготовления тромбоцитов для изучения их морфологии поверхности с помощью атомно-силовой микроскопии.

**Материалы и методы.** Исследования морфологии поверхности тромбоцитов проводились на атомно-силовом микроскопе (Nanoscope IIIa) в tapping режиме на воздухе с использованием стандартных кремниевых кантилеверов ( $k=29-57$ н/м, Nanosensors GmbH). В первой серии экспериментов исследовались тромбоциты, фиксированные в 4% растворе формалина. Во второй серии экспериментов исследовались тромбоциты, фиксированные в 1,25% растворе глутарового альдегида. Забор крови из локтевой вены проводился максимально быстро, благодаря чему исследуемые морфологические признаки тромбоцитов соответствовали их функциональному состоянию в кровотоке. В качестве подложки использовалась свежесколотая слюда.

**Результаты и их обсуждение.** Большинство тромбоцитов циркулирующих в кровотоке были интактны и имели дисковидную или овальную формы. Морфология интактных тромбоцитов изменялась от дисковидной формы до дисковидной формы с протуберанцами, сфероидной формы высотой 650 нм с короткими филоподиями, сфероидной формы высотой 610нм с длинными и узкими филоподиями, веретенообразной формы высотой 550 нм. Были также визуализированы и активированные тромбоциты. Обнаружено, что фиксация в 4% растворе формалина приводила к умеренной деформации поверхности тромбоцитов, что не позволяло выявить особенности структуры цитоскелета кровяных пластинок. А на АСМ-изображениях тромбоцитов, фиксированных в 4% растворе формалина, визуализировались артефакты. Диаметр интактных тромбоцитов, фиксированных в 1,25% растворе глутарового альдегида, в среднем составлял 2,5 – 3 мкм, высота – 300 нм. Использование 1,25% раствора глутарового альдегида приводит к фиксации примембранных актиновых структур, что позволяет визуализировать процесс полимеризации актиновых филаментов псевдоподий активированных тромбоцитов.

**Выводы.** Результаты данной работы показывают, что использование 1,25% раствора глутарового альдегида в качестве фиксатора обеспечивает лучшую морфологическую сохранность и стабилизацию примембранных актиновых структур кровяных пластинок по сравнению с 4% раствором формалина, что практически не приводит к артефактам на АСМ-изображениях тромбоцитов и позволяет визуализировать процесс полимеризации актиновых филаментов псевдоподий активированных тромбоцитов.